（技術名）**ニガウリ種子由来のDNAを用いた効率的な遺伝子型判定法**							
（要約）ニガウリ種子の種皮を除去し、胚の一部から抽出したDNAを用いることにより、種子の発芽能力を維持しながら遺伝子型を判定できるため、DNAマーカーによる効率的な個体の選抜が播種前に可能となる。							
農業研究センター・研究企画班、野菜花き班			連絡先	098-840-8513			
部会名	野菜・花き	専門	育種	対象	ニガウリ	分類	研究
普及対象地域							

[背景・ねらい]

ニガウリ育種において、雌性型やうどんこ病抵抗性などの重要形質について MAS（Marker assisted selection：DNA マーカー選抜育種法）による個体選抜を実施している。現在、幼苗期に葉から DNA を抽出しているため、定植までの短期間（約２週間）に MAS を実施しているが、多検体からの DNA 抽出には時間を要しており、取り扱える検体数が制限されているといった課題を抱えている。そこで、雌性型判定 DNA マーカーを用いた個体選抜を例として、ニガウリ種子組織から DNA を抽出し、播種前に遺伝子型を判定する手法を開発する。

[成果の内容・特徴]

１．乾燥種子の種皮を除去し、胚の先端部分（２～３mm）を DNA 抽出に用いることができる。胚の一部を切除した種子（切除種子）は、個体識別のため 1.5 ml マイクロチューブに入れ、慣行の保存法と同様に４℃で保存する（図１）。
２．種皮は、母親の遺伝子型を示すため（データ省略）、除去する必要がある。
３．種子の遺伝子型（バンドパターン）は、発芽後の本葉から抽出した DNA を用いた時と同一で、検出感度に差は認められない（図２）。
４．切除種子は、種皮を除去した種子（無切除種子）と比較して、保存３ヶ月後においても切除による発芽率の低下は認められない（図３）。
５．切除種子の発芽苗は子葉の先端のみに切除跡が観察され、生育への影響は小さい（図４）。
６．他の有用形質（うどんこ病抵抗性および雑種性）を判別できる DNA マーカーでも活用できる（データ省略）。
７．以上のことから、複数の DNA マーカーを用いて播種前から MAS を実施することが可能で作業が平準化できるため、現行よりも大規模な育種集団を取り扱うことができる。

[成果の活用面・留意点]

１．本技術は、ニガウリ育種における MAS の効率化に活用する。
２．供試した種子は、雌性型系統 OHB61-5（雌花節率 100%）と混性型系統 OHB95-1A（雌花節率３%）の F_2 種子である。
３．DNA 抽出は DNeasy Plant Mini Kit（Qiagen 社）を用いた結果である。

［具体的データ］

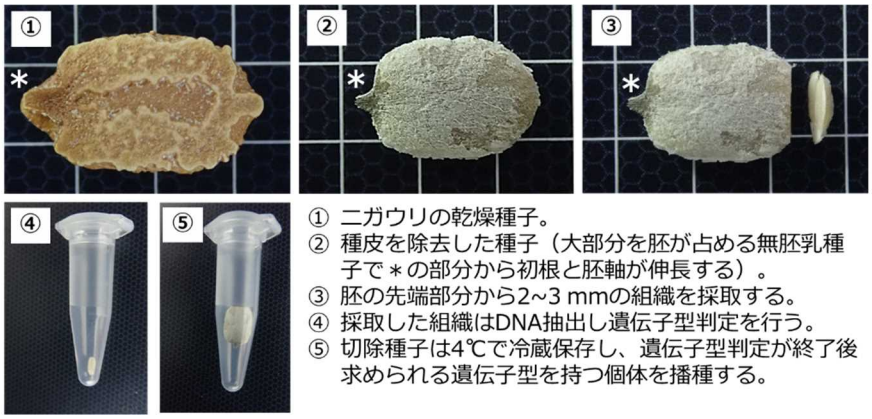

図１　ニガウリ種子からの遺伝子型判定の手順
背景の方眼マスは 5 mm。

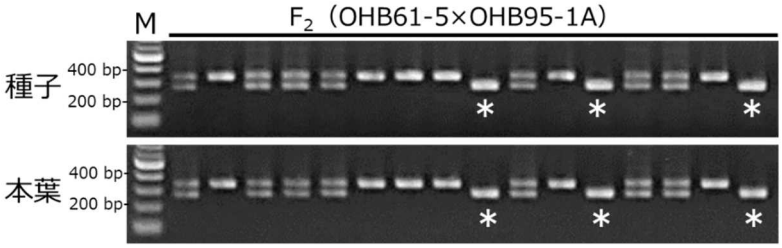

図２　アガロースゲル電気泳動よる遺伝子型（バンドパターン）の判定結果の比較
同一レーンは同じ個体で上段は種子、下段は発芽後の本葉の判定結果を示す。 ＊は雌性型の遺伝子型を持つ個体である。M は 1 kb Plus DNA Ladder (New England BioLabs 社)である。

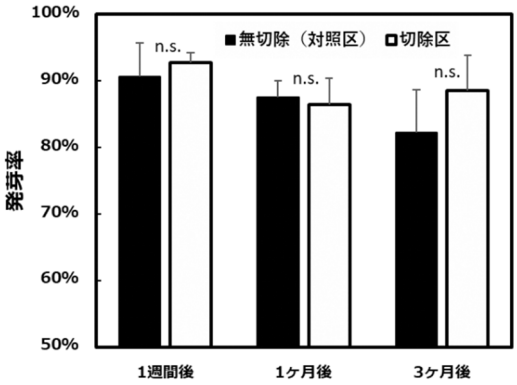

図３　切除種子の保存期間別の発芽能力
それぞれの試験区は 32 種子の 3 反復（合計 96 種子）で実施した。バーは標準偏差を示す。n.s.は、GLMM（binominal、logit リンク、ランダム効果：反復）による検定で有意差なしを示す。

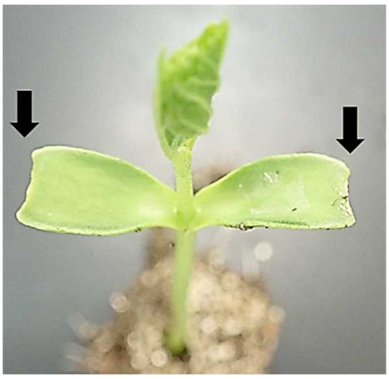

図４　切除種子の発芽苗の様子
矢印は切除跡を示す。

［その他］

課題 ID：2018 農 001
研究課題名：先端技術を結集した園芸品目競争力強化事業
予算区分：沖縄振興特別推進交付金（先端技術を結集した園芸品目競争力強化事業）
研究期間（事業全体の期間）：2021 年度（2018～2021 年度）
研究担当者：太郎良和彦、伊礼彩夏、儀間康造、宮城牧
発表論文等：伊礼彩夏ら（投稿中）沖縄県農研セ研報